

Untersuchungen zum Mechanismus der Blutkörperchensenkung

von

GISELA NASS

1960

Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München
Direktor: Professor Dr. Adolf Butenandt

Untersuchungen zum Mechanismus der

Blutkörperchensenkung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
G i s e l a N a s s

aus
Hannover

1960



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof, Dr, Dr, G, Ruhepstroth-Bauer

Mitberichterstatter: Prof, Dr, Dr, A, Butenandt

Dekan: . . Prof. Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 21. 12. 1960.

Diese Arbeit wurde von Juni 1958 bis Juni 1960
im Max-Planck-Institut für Biochemie in München
durchgeführt.

Herrn Professor Dr. A. Butenandt und Herrn
Professor Dr. G. Ruhenstroth danke ich herzlich
für die wohlwollende Förderung dieser Arbeit.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555225_0072

Inhaltsübersicht

	Seite
Einleitung und Problemstellung	1 - 5
Allgemeine Methodik	5 - 8
Ergebnisse	
A) Methodische Ergebnisse	8 - 20
B) Untersuchungen an der Heterosedimentation	20 - 35
C) Untersuchungen an der Autosedimentation	35 - 45
Diskussion	46 - 49
Zusammenfassung	50 - 51
Literaturverzeichnis	52 - 53

Untersuchungen zum Mechanismus der

Blutkörperchensenkung

Als Blutkörperchensenkung bezeichnet man die Sedimentation von Erythrozyten in nicht hämolysierenden Suspensionsmedien, z.B. in Plasma, Serum oder Dextranlösungen.

Die ersten Beschreibungen der Blutkörperchensenkung (BKS) findet man bei Hewson¹⁾ am Ende des 18. Jahrhunderts. Anlaß hierzu war die Beobachtung, daß die Sedimentation menschlicher Erythrozyten im Serum bei bestimmten Krankheiten beschleunigt ist; ausführlicher berichtet hierüber Nasse²⁾ (1836). Seit den Untersuchungen von Bieracki³⁾ (1894) ist die Sedimentation von Erythrozyten im zugehörigen Plasma eine Routinemethode in der ärztlichen Diagnostik geworden.

Bei der Blutkörperchensenkung in Plasma kann man folgende drei Senkungsarten unterscheiden:

1. Autosedimentation: d.h. die Senkung von Erythrozyten im Plasma des gleichen Individuums.
2. Homöosedimentation: die Senkung von Erythrozyten im individualfremden aber artgleichen Plasma.
3. Heterosedimentation: die Senkung von Erythrozyten im artfremden Plasma.

Die bisherigen Untersuchungen zur Charakterisierung der an diesen drei BKS-Arten beteiligten Faktoren wurden hauptsächlich an der Autosedimentation ausgeführt. Diese ist durch das Zusammenspiel von bestimmten Erythrozytenoberflächen- und Plasmafaktoren bedingt. Das gilt auch für die Homöo- und Heterosedimentation; doch unterscheiden sich die Eigenschaften der an der BKS beteiligten Faktoren in mancher Hinsicht bei den drei Senkungsarten; infolgedessen weichen auch

ihre Reaktionsweisen und Entstehungsursachen voneinander ab. Deshalb wird im folgenden für jede Senkungsart der heutige Wissensstand einzeln skizziert.

1. Autosedimentation. Am Anfang des 20. Jahrhunderts begannen Fahraeus⁴⁾ und Bergenheim^{5,6)} mit der systematischen Untersuchung der menschlichen Autosedimentation; seitdem sind viele Befunde sowohl über die Art als auch über die Wirkungsweise der bei dieser BKS beteiligten Faktoren erhoben worden, die heute folgendermassen zusammengefaßt werden^{7,8)}: An ihrem Zustandekommen sind spezifische und unspezifische Plasmafaktoren beteiligt. Die spezifischen Faktoren, die sogenannten Agglomerine, haben Globulincharakter und lassen sich nur bei kranken Menschen mit beschleunigter BKS nachweisen. Die Agglomerine benötigen zu ihrer Auswirkung ein hochmolekulares unspezifisches Supplement; sie ähneln in ihrem Wirkungsmechanismus also inkompletten Antikörpern. Die Faktoren an der Erythrozytenoberfläche lassen sich mit Methoden der Glykolipidgewinnung stark anreichern; ob sie selbst Glykolipide sind, ist aber noch nicht bewiesen. Die Erythrozytenrezeptoren und die unspezifischen Plasmafaktoren findet man auch bei gesunden Menschen ohne beschleunigte BKS. Außerdem ist im Plasma noch ein Senkungsproinhibitor vorhanden, der bei 37° C durch eine spezifische Lipase in einen Senkungsinhibitor umgewandelt wird. Beim Zusammenspiel der beschriebenen Faktoren bilden sich Erythrozytenagglomerate, die sich mit bestimmter Geschwindigkeit im Plasma senken. Für Einzelheiten der Reaktionsabläufe gibt es aber bisher nur Modellvorstellungen. Über Ursachen für die Entstehung der beteiligten Faktoren kann man keine begründeten Aussagen machen; Begriffe wie Infektion, Carcinom oder Entzündung, die als Ursachen für das Auftreten einer beschleunigten BKS, bzw. der Agglomerine angegeben werden, stellen keine ausreichende Erklärung dar.

2. Homöosedimentation. Diese ist bisher nur beim Menschen näher untersucht worden. Man unterscheidet zwischen einer Homöosedimentation, bei der Plasma und Erythrozyten von Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe stammen (blutgruppengleiche Homöosedimentation) und einer Homöosedimentation, bei der Plasma- und Erythrozytenspender eine unterschiedliche ABO-Blutgruppe besitzen (blutgruppenungleiche Homöosedimentation). Bei der blutgruppengleichen Homöosedimentation tritt nur dann eine beschleunigte BKS auf, wenn das Plasma von einem Menschen mit beschleunigter Autosedimentation stammt. Hierfür sind dann offenbar die gleichen Faktoren wie für die beschriebene Autosedimentation verantwortlich. Bei der blutgruppenungleichen Homöosedimentation^{9,10)} tritt immer dann eine beschleunigte BKS auf, wenn in dem Plasma α - oder β -Agglutinine für die Erythrozyten vorhanden sind. Man kann daher vermuten, daß die für diese Homöosedimentation verantwortlichen Faktoren an der Erythrozytenoberfläche die A,B-Blutgruppenrezeptoren und die zugehörigen Plasmafaktoren die α - und β -Agglutinine sind. Experimentell wurde allerdings noch nicht die Möglichkeit ausgeschlossen, daß an der blutgruppenungleichen Homöosedimentation Faktoren beteiligt sind, deren zugehörige Gene mit den Genen für die ABO-Blutgruppen-Eigenschaften gekoppelt vererbt werden, so daß die zwei Faktorengruppen gleichzeitig ausgeprägt oder nicht vorhanden sind und so eine Identität nur vortäuschen. Für den Fall der Identität handelt es sich bei den die Homöosedimentation auslösenden Plasmafaktoren um die aus der Blutgruppenkunde bekannten α - und β -Agglutinine; sie gehören zu den Globulinen. Die zugehörigen Rezeptoren an der Erythrozytenoberfläche sind schon weitgehend in ihrer chemischen Struktur aufgeklärt¹¹⁾: es sind Mucopolysaccharide.

Die blutgruppenungleiche Homöosedimentation läuft unter Ausbildung sichtbarer Agglutinate ab, die sich mit bestimmter Geschwindigkeit im Plasma senken. Unter den genannten Voraussetzungen sind die beteiligten Erythrozyten- und Plas-

mafaktoren ständig im Blut vorhanden. Die Ursachen für die Entstehung dieser Erythrozytenrezeptoren sind allein in der genetischen Konstitution zu sehen, denn die Ausbildung der A,B-Rezeptoren ist ein Beispiel für eine primäre Genwirkung, d.h. die Auswirkung dieser Gene wird nicht durch das sonstige Genom oder die Umwelt beeinflusst.

Die Plasmafaktoren werden dann als Antwort auf bestimmte Umweltreize gebildet. Neuere Untersuchungen¹²⁾ haben es wahrscheinlich gemacht, daß die α - und β -Agglutinine infolge immunogener Reize entstehen; ob die Reize wirksam werden, bestimmt das Genom.

3. Heterosedimentation. Die ersten Beschreibungen der Senkung von Erythrozyten in Plasmen anderer Species findet man im Jahr 1922¹³⁾. Weitere Untersuchungen¹⁴⁾ zur Heterosedimentation haben gezeigt, daß immer dann eine beschleunigte BKS auftritt, wenn in dem Plasma Agglutinine für die Erythrozyten der anderen Species vorhanden sind. Über die zugehörigen Rezeptoren an der Erythrozytenoberfläche sind für diese Senkungsart noch keine Einzelheiten bekannt; dies gilt sowohl für ihre chemischen Eigenschaften, wie für ihre Entstehungsursachen. Für das Auftreten der beteiligten Plasmafaktoren kann man die gleichen Ursachen annehmen wie für die Entstehung der α - und β -Agglutinine.

In dieser Arbeit wird A.) nach einer Reihe von methodischen Vorarbeiten über folgende Untersuchungen berichtet: B.) über Versuche zur weiteren Charakterisierung der Faktoren, die die BKS unmittelbar bedingen und C.) über Versuche zur Auffindung von Faktoren, die die BKS mittelbar bedingen. Die Untersuchungen zu B.) wurden an der Heterosedimentation ausgeführt: es wurde geprüft, ob die hierbei unmittelbar notwendigen Erythrozytenoberflächen- und Plasmafaktoren bei erbgleichen Individuen identisch sind und ob ihre Ausbildung durch Umwelteinflüsse verändert wird. Die

Untersuchungen zu C.) wurden an der Autosedimentation gemacht: es wurde versucht, die Ursachen für die Entstehung der spezifischen Plasmafaktoren bei dieser BKS näher zu charakterisieren.

Allgemeine Methodik.

1. Blutgewinnung: Das Blut wurde in Form von venösem Citratblut (Blut : 3,8%iger Natriumcitratlösung = 4 : 1) gewonnen.

2. Herstellung der Erythrozyten-Plasma-Gemische: Das Citratblut wurde durch Zentrifugieren bei 1880 g während 10 Minuten in Plasma und Erythrozyten aufgeteilt. Das überstehende Plasma wurde abgossen und die durch das Zentrifugieren gepackten Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung (NaCl) aufgeschwemmt. Es wurde erneut 10 Minuten bei 1880 g zentrifugiert. Die überstehende NaCl-Lösung wurde dann mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und die gepackten Erythrozyten erneut in NaCl aufgeschwemmt und wie beschrieben zentrifugiert. Das Waschen der Erythrozyten mit NaCl wurde jeweils dreimal ausgeführt, um praktisch alle Plasmareste von den Erythrozyten zu entfernen. Es wurden dann gepackte Erythrozyten und Plasma im Verhältnis 1 : 2 zusammengegeben.

3. Bestimmung der Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten: Hierzu wurde die Methode von Westergren verwandt¹⁵⁾: das Erythrozyten-Plasma-Gemisch (E.-Pl.-Gemisch) wurde in Glasröhrchen von $2,5 \pm 0,1$ mm Durchmesser 200 mm hoch aufgezogen; zur Füllung von einem Senkungsröhrchen wurden 1,5 ml E.-Pl.-Gemisch benötigt. 1/2, 1 und 2 Stunden nach dem Aufziehen des E.-Pl.-Gemisches wurde die Strecke in mm abgelesen, um die sich die obersten Erythrozyten im Plasma gesenkt hatten. Bei der Bestimmung der Senkungswerte wurde stets auf annähernd konstante Temperatur ($18-20^{\circ}$ C), gera-

de Stellung der Senkungsröhrchen und Sauerstoffsättigung der Erythrozyten geachtet, da die BKS durch diese äusseren Faktoren beeinflusst werden kann^{16,17,18}).

4. Reinigung der Glasgeräte: Nach dem üblichen Waschen der Glassachen wurden sie für 12 Stunden in Chromschwefelsäure gestellt, anschliessend 10 Stunden gewässert und im Trockenschrank bei 150° C getrocknet.

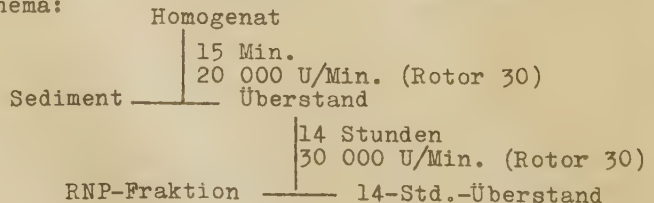
5. Bestimmung der Erythrozytenkonzentration: Diese wurde mit dem Hämoskop nach Hellige gemessen, dessen Fehlerbreite 1,16 % beträgt¹⁹).

6. Herstellung von Zellfraktionen aus E. coli Bakterien²⁰):

a) Bakteriengewinnung. Es wurden Escherichia coli B Bakterien in Nährbouillon unter Belüftung bei 37° C gezüchtet. Die Bakterien wurden abzentrifugiert und zweimal mit Phosphatpuffer (0,035 m Na₂HPO₄, 0,004 m MgCl₂, 0,025 m KCl, pH 6,9) gewaschen.

b) Herstellung des Zellhomogenates. Das Bakteriensediment wurde in 2 Volumen Phosphatpuffer aufgenommen. 1 Volumen dieser Suspension wurde mit 1,5 Volumen trockener Glasperlen ($\emptyset$ = 0,1 mm) in einem Vibrationshomogenisator bei 3500 U/Min. 15 Minuten lang homogenisiert. Das Homogenat wurde durch Absaugen auf einer Glasfritte (G 2 von Schott & Gen.) von den Glasperlen getrennt. Um eine annähernd quantitative Ausbeute zu bekommen, wurden die Glasperlen mit 1 Volumen Phosphatpuffer nachgespült.

c) Die Gewinnung von Zellfraktionen geschah durch differentielles Zentrifugieren in der Ultrazentrifuge (Spinco UZ, Modell L). Schema:



d) Die RNS-Gewinnung aus den RNP erfolgte mit Hilfe der Phenolmethode²¹⁾. Eine ungefähr 10%ige RNP-Suspension wurde mit einem Volumen einer 80%igen Phenollösung 10 Minuten geschüttelt. Durch niedertouriges Zentrifugieren für 3 Minuten trennten sich eine wässrige und eine phenolische Phase. Die wässrige, RNS-haltige Phase wurde erneut 2 Minuten mit 1 Volumen Phenollösung geschüttelt und durch Zentrifugieren wieder von der Phenolphase abgetrennt. Die wässrige Phase wurde durch dreimaliges Ausäthern von Phenolresten befreit. Dann wurde die RNS durch Zugabe von 3 Volumen Äthanol gefällt, das Präzipitat durch niedertouriges Zentrifugieren gewonnen, zweimal mit Äthanol und einmal mit Äther gewaschen und dann an der Wasserstrahlpumpe getrocknet. Alle Arbeitsgänge wurden bei $+4^{\circ}\text{C}$ ausgeführt. Die einzelnen Coli-Zellfraktionen wurden bei -23°C aufgehoben.

7. Wärmeinaktivierung und Blockung von Blutkörperchensenkungen.

a) Wärmeinaktivierung. Vor Herstellung des E.-Pl.-Gemisches wurde das Plasma für einige Stunden im Brutschrank einer Temperatur von 37°C ausgesetzt.

b) Blockung. Der genormte BKS-Ansatz von 1 ml Plasma + 0,5 ml gewaschene Erythrozyten wurde dahingehend variiert, daß 0,9 ml Plasma + 0,5 ml gewaschene Erythrozyten + 0,1 ml NaCl zusammengegeben wurden; in den 0,1 ml NaCl war die Substanzmenge gelöst, deren Blockereigenschaften getestet werden sollten.

8. Fibrinogenbestimmung im Plasma.²²⁾ Zu 1 ml Citratplasma wurden 23 ml einer Lösung gegeben, die 0,17 % $\text{CaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ und 0,9 % NaCl enthielt. Hierzu wurden dann 6 ml einer 0,9%igen NaCl-Lösung gegeben, in der vorher 1 Ampulle Testthrombin (Behringwerke) und 0,05 ml Trasylol (Bayer) gelöst worden waren. Aus dieser Lösung wurde mit einem Holzstäbchen das ausfallende Fibrin durch Drehen quantitativ entfernt. Der Stick-

stoffgehalt dieses Fibrins wurde nach der Kjeldahl-Mikromethode von Conway²³⁾ bestimmt und daraus der Fibrinogengehalt des Plasmas in Milligrammprozent berechnet. Die Streuung der Fibrinogendoppelbestimmungen betrug $\pm 4,6\%$.

Ergebnisse.

A.) Methodische Ergebnisse. Es wurde die Fehlerbreite der Bestimmung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit 1. bei der Autosedimentation und 2. bei der Heterosedimentation geprüft, um Versuchsergebnisse miteinander vergleichen zu können. Zunächst wurde die Fehlerbreite von parallel angesetzten Senkungen aus demselben E.-Pl.-Gemisch bestimmt.

1. Bei der Autosedimentation: Aus Blut von Menschen mit beschleunigter BKS wurde jeweils ein E.-Pl.-Gemisch mit einer Erythrozytenkonzentration von 3,20 Mill./cmm hergestellt. Hieraus wurden jeweils fünf Senkungen aufgezogen und die Senkungsgeschwindigkeiten der Erythrozyten nach bestimmten Zeiten abgelesen: Tabelle 1 zeigt die Senkungswerte an einem Beispiel.

Ansatz \ Stunden	1/2	1	2	20
I	32	75	104	128
II	31	74	104	128
III	30	72	103	128
IV	29	70	103	128
V	32	74	104	128

Tabelle 1.

Ergebnis: Die Werte weichen nur wenig voneinander ab, die Streuung der Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten innerhalb der einzelnen E.-Pl.-Gemische ist also gering. Bei der Autosedimentation ergeben sich also aus demselben E.-Pl.-Gemisch jeweils reproduzierbare und somit vergleichbare Senkungswerte.

2. Bei der Heterosedimentation: Der für die Autosedimentation geschilderte Versuch wurde an folgenden Senkungskombinationen gemacht:

Erythrozyten	Plasma
Pferd	Mensch
Schwein	Mensch
Kaninchen	Mensch
Ratte	Schwein
Mensch	Pferd
Mensch	Schwein
Mensch	Kaninchen
Schwein	Ratte

Tabelle 2 zeigt als Beispiel die Senkungswerte einer Kombination aus Menschenerythrozyten und Schweineplasma.

Ansatz \ Stunden	1/2	1	2	20
I	22	61	102	125
II	25	59	102	125
III	27	67	103	125
IV	32	71	102	125
V	40	85	104	126

Tabelle 2

Ergebnis: Bei diesen wie allen anderen untersuchten Heterosedimentationen streuen die Werte für die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrozyten stark; am meisten in dem Senkungsbereich von 20 bis 80 mm. Ein gleiches Ergebnis wurde an der Homöosedimentation gewonnen: die Werte streuen bei entsprechendem Versuchsansatz im gleichen Maß wie die der Heterosedimentation.

Es wurde nun versucht, durch Variieren der Bedingungen bei Bestimmung der Senkungswerte für die Heterosedimentation die Streuung der Werte zu verringern.

Ergebnis: keine der untersuchten Variablen vermindert die Streuung. Dies gilt für folgende Änderungen:

A) äussere Faktoren

1. Licht
2. Temperatur
3. Glassorten der Senkungsröhrchen
4. Masse der Senkungsröhrchen
5. Reinigung der Senkungsröhrchen
6. Abschluß der Senkungssäule

B) Vorgänge bei der BKS

1. Standfestigkeit der Senkungsstände
2. Erythrozyten-Plasma-Mischungsverhältnis
3. Ungerinnbarkeit des Blutes
4. Herstellung des E.-Pl.-Gemisches
5. Zeitabstände
6. Glasperlenadsorption
7. Wiederholung des Senkungsvorganges

Diese Untersuchungen wurden an der Heterosedimentation aus Kaninchen- und Menschenblut ausgeführt; als Kontrolle wurden stets fünf entsprechende Senkungen unter den oben geschilderten normalen Bedingungen ablaufen gelassen. Da in allen nachfolgenden Experimenten sich die Werte in Bezug auf ihre Streuung nicht von den Kontrollwerten unterschieden, wird dieses Ergebnis bei den Versuchsansätzen nicht einzeln aufgeführt. Durchschnittliche Abweichungen der BKS-Werte von den Kontrollwerten werden bei den ent-

sprechenden Versuchen aufgezählt.

Untersuchungen zu A:

1. die BKS lief im Dunkeln ab.
2. die BKS erfolgte a) bei 37°C, b) bei 4°C.
Ergebnis: bei a) war die BKS in den ersten 30 Minuten gegenüber der Kontrolle beschleunigt, nach 2 Stunden verlangsamt. Bei b) war die BKS von Anfang an verlangsamt.
3. Anstelle der üblichen Westergren-Senkungsröhrchen wurden Röhrchen gleicher Ausmasse aus folgenden Materialien verwandt:
 - a) Plastik
 - b) Duran 20 Glas
 - c) Jena 20 Glas
 - d) Jena Supremax Glas
4. Anstelle der Westergren-Senkungsröhrchen wurden Glasröhrchen folgender Masse benutzt:
 - a) mit dem Durchmesser von 1, 2, 3 und 10 mm und jeweils einer Länge von 250 mm,
 - b) mit einem Durchmesser von 1 und 2 mm und einer Höhe von 500 mm.

Ergebnis: a) bei einem Durchmesser von 10 mm sind die Senkungswerte grösser als bei einem Durchmesser von 1, 2 oder 3 mm. b) bei einer Senkungssäule von 500 mm Höhe ergibt sich ein grösserer 20-Std.-Wert als bei einer Höhe von 250 mm.

5. Vor Verwendung der Westergren-Röhrchen wurden sie mit Flußsäure oder Ameisensäure und anschliessend mit Aqua dest. gespült.
6. Nach Aufziehen des E.-Pl.-Gemisches wurde ein Tropfen Zedernöl auf die Senkungssäule gegeben.

Untersuchungen zu B:

1. Die Senkungsröhrchen im Senkungsständer wurden während der BKS mit einer Schüttelmaschine vertikal oder horizontal 60 oder 150 mal pro Minute geschüttelt.
Ergebnis: beim senkrechten Schütteln sind die BKS-Werte grösser als die Kontrollwerte.
2. a) die Erythrozytenkonzentration im E.-Pl.-Gemisch wurde auf Werte kleiner als 3,20 Mill./cmm eingestellt.
b) die Senkungsröhrchen wurden vor dem Aufziehen des E.-Pl.-Gemisches mit dem zugehörigen Plasma durchgespült.
Ergebnis: a) je niedriger die Erythrozytenkonzentration ist, desto grösser sind die Senkungswerte. b) es ergaben sich grössere BKS-Werte als bei den Kontrollen.
3. Anstelle von Citratblut wurde Heparinblut verwendet.
4. a) die Erythrozyten wurden unter Rühren mit einem Magnetrührer zu dem Plasma gegeben.

- b) Das E.-Pl.-Gemisch wurde mit einem Magnetrührer gerührt während es in die Senkungsröhrchen aufgezogen wurde.
5. Nach Herstellung des E.-Pl.-Gemisches wurde es vor dem Aufziehen in die Senkungsröhrchen $1/2$, 1 oder 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen.
6. a) Vor Zugabe der Erythrozyten stand das Plasma 2 Stunden auf einer Glasperlensäule.
b) Das E.-Pl.-Gemisch wurde vor dem Aufziehen in die Senkungsröhrchen 2 Stunden auf eine Glasperlensäule getan.
7. Das E.-Pl.-Gemisch wurde, nachdem es sich zwei Stunden in den Senkungsröhrchen befunden hatte, in ein kleines Reagenzglas auslaufen gelassen, etwas geschüttelt und dann jeweils in dasselbe Senkungsröhrchen wieder aufgezogen und erneut zur BKS aufgestellt.
Ergebnis: die Werte in den einzelnen Röhrchen unterscheiden sich beim ersten und zweiten Senken. Außerdem war der $1/2$ -Stunden-Wert beim zweiten Senken stets grösser als beim ersten Senken; der 2-Stunden-Wert stets kleiner.

Der gleiche Versuchsansatz bei der Autosedimentation ergab dasselbe in Bezug auf die Senkungsbeschleunigung bzw. -verlangsamung beim erneuten Senken. Außerdem streuten die BKS-Werte beim zweiten Senken.

Eine Verringerung der Streuung der Senkungswerte bei der Hetero- und Homöosedimentation konnte also nicht erreicht werden. Es wurde deshalb an verschiedenen Hetero- und Homöosedimentationen geprüft, wieviele Senkungen aus demselben E.-Pl.-Gemisch jeweils aufgezogen werden müssen, damit sich brauchbare Mittelwerte ergeben: je E.-Pl.-Gemisch ist die Bestimmung der Senkungswerte von 8 Senkungsansätzen nötig, um Mittelwerte mit einer Streuung $\bar{s}$ zwischen 0 und 5 zu ergeben. Auf diese Weise ist es also möglich, auch bei der Homöo- und Heterosedimentation aus demselben E.-Pl.-Gemisch jeweils reproduzierbare und somit vergleichbare Senkungswerte zu erhalten. Sämtliche Ergebnisse bei der Homöo- und Heterosedimentation wurden bei nachfolgenden Untersuchungen deshalb in Form von Mittelwerten und deren Streuung $\bar{s}$ gewonnen; die Mittelwerte und

deren Streuung $\bar{s}$ ergaben sich aus je 8 Einzelwerten. Es ist bekannt^{16,24)}, daß die Senkungswerte durch die Konzentration der Bestandteile der E.-Pl.-Gemische beeinflußt werden. Um auch die Senkungswerte verschiedener E.-Pl.-Gemische miteinander vergleichen zu können, sollten also jeweils E.-Pl.-Gemische identischer Konzentration ihrer Bestandteile verwandt werden. Wie aber aus der Beschreibung der Herstellung von E.-Pl.-Gemischen zu sehen ist (allgemeine Methodik), können sich die Konzentrationen der einzelnen Bestandteile in den jeweils hergestellten Gemischen etwas unterscheiden. Deshalb wurde die Toleranz der E.-Pl.-Gemische gegenüber Konzentrationsänderungen der Komponenten geprüft. Da das E.-Pl.-Gemisch aus Erythrozyten, Plasma und NaCl besteht, wurden bei der Autosedimentation (1) und Heterosedimentation (2) folgende Versuchsreihen aufgestellt:

A) E.-Pl.-Gemische mit bestimmter Erythrozytenkonzentration wurden verdünnt mit

- a) Plasma
- b) NaCl.

B) Bei gleichbleibender Erythrozytenkonzentration wurde das Plasma-NaCl-Verhältnis geändert.

1. Untersuchungen an der menschlichen Autosedimentation:

Beispiele:

	1-Stundensenkungswert
zu A): Erythrozytenkonzentration = 3,40 Mill./cmm	62
mit Plasma verdünnt; E.-Konz. = 2,00 Mill./cmm	106
mit NaCl verdünnt; E.-Konz. = 2,00 Mill./cmm	8

oder

Erythrozytenkonzentration = 3,50 Mill./cmm	41
mit Plasma verdünnt; E.-Konz. = 3,20 Mill./cmm	52
mit NaCl verdünnt; E.-Konz. = 3,20 Mill./cmm	24

zu B): Erythrozytenkonzentration = 3,20 Mill./cmm

Plasma : NaCl	= 1 : 0	28
Plasma : NaCl	= 9 : 1	16
Plasma : NaCl	= 4 : 1	11
Plasma : NaCl	= 7 : 3	6

Diese Beispiele zeigen: A) Eine Erniedrigung der Erythrozytenkonzentration in diesen E.-Pl.-Gemischen durch Verdünnen mit Plasma vergrößert die Senkungswerte; Verdünnen mit NaCl verkleinert sie. B) Bei gleichbleibender Erythrozytenkonzentration verkleinern sich die Senkungswerte, wenn in den E.-Pl.-Gemischen Plasma durch NaCl ersetzt wird.

2. Untersuchungen an der Heterosedimentation: sie wurden an der Hetero-BKS aus

- α) Schweineplasma und Menschenerythrozyten
- β) Menschenplasma und Schweineerythrozyten

durchgeführt.

Beispiele zu α):

1-Stundensenkungswert

zu A): Erythrozytenkonzentration = 3,20 Mill./cmm 106,7 ± 2,38
 mit Plasma verdünnt; E.-Konz. = 2,50 Mill./cmm 135,5 ± 0,53
 mit NaCl verdünnt; E.-Konz. = 2,50 Mill./cmm 125,7 ± 0,07

zu B): Erythrozytenkonzentration = 3,20 Mill./cmm

Plasma : NaCl	= 8 : 0	92,8 ± 3,36
Plasma : NaCl	= 7 : 1	84,5 ± 5,25
Plasma : NaCl	= 3 : 1	82,7 ± 3,84
Plasma : NaCl	= 5 : 3	84,8 ± 1,45

oder

Erythrozytenkonzentration = 3,20 Mill./cmm

Plasma : NaCl	= 8 : 0	106,0 ± 2,38
Plasma : NaCl	= 5 : 3	91,7 ± 0,52

Beispiele zu β):

zu A): Erythrozytenkonzentration = 4,00 Mill./cmm 10,2 ± 1,75
 mit Plasma verdünnt; E.-Konz. = 2,00 Mill./cmm 141,0 ± 0,81
 mit NaCl verdünnt; E.-Konz. = 2,00 Mill./cmm 137,0 ± 0,0

zu B): Erythrozytenkonzentration = 3,20 Mill./cmm

Plasma : NaCl	= 14 : 0	48,5 ± 2,36
Plasma : NaCl	= 8 : 6	15,6 ± 0,71

Diese Beispiele zeigen: A) Eine Erniedrigung der Erythrozytenkonzentration durch Verdünnen dieser E.-Pl.-Gemische mit Plasma vergrössert die jeweiligen Senkungswerte; Verdünnen mit NaCl vergrössert sie ebenfalls, wenn auch weniger stark. B) Bei gleichbleibender Erythrozytenkonzentration läßt sich das Plasma der E.-Pl.-Gemische bis zu einem gewissen Grad durch NaCl ersetzen; verschiebt sich das Plasma-NaCl-Verhältnis zu weit zugunsten des NaCl, so verkleinern sich die Senkungswerte.

Diese Untersuchungen an der Auto- und Heterosedimentation haben also folgendes ergeben: Auto- und Heterosedimentation verändern sich gleichsinnig schon bei geringer Änderung der Konzentrationen von Erythrozyten, Plasma oder NaCl in den E.-Pl.-Gemischen: Eine Erniedrigung der Erythrozytenkonzentration ergibt bei gleichbleibendem Plasma-NaCl-Verhältnis eine BKS-Beschleunigung. NaCl anstatt Plasma bei unveränderter Erythrozytenkonzentration führt zu einer BKS-Hemmung. Diese beiden Konzentrationsänderungen in E.-Pl.-Gemischen beeinflussen die Grösse von BKS-Werten also gegenseitig, und zwar in verschiedenem Ausmaß bei Auto- und Heterosedimentation. Dies gilt für den gesamten BKS-Ablauf, also auch für den 24-Stundenwert, denn auch dieser spiegelt die unterschiedliche Senkungsgeschwindigkeiten von Erythrozyten in verschiedenen E.-Pl.-Gemischen wider. Es ist also nicht möglich, in dem 24-Stundenwert den Hämatokritwert zu sehen. Folgende Beispiele sollen dies belegen:

1. menschliche Autosedimentation:

Erythrozytenkonzentration = 3,20 Mill./cmm

	1-Stundensenkungswert	24-Stundensenkungswert
a)	67	120
b)	9	92

2. Heterosedimentation (Schweineplasma und Menschenerythrozyten):

Erythrozytenkonzentration = 3,20 Mill./cmm

	1-Stundensenkungswert	24-Stundensenkungswert
a)	65,6 $\pm$ 4,06	122,2 $\pm$ 0,45
b)	108,8 $\pm$ 1,38	137,0 $\pm$ 0,0

Die Beeinflussung der Senkungswerte durch gleiche Konzentrationsänderungen der Bestandteile der E.-Pl.-Gemische ist auch innerhalb der einzelnen Senkungsarten bei verschiedenen E.-Pl.-Gemischen unterschiedlich; es lassen sich also keine allgemein gültigen quantitativen Abhängigkeitsaussagen über den Einfluß der Konzentrationsänderung von Erythrozyten, Plasma oder NaCl in den E.-Pl.-Gemischen auf die Senkungswerte machen. Es erweist sich also als notwendig, stets mit E.-Pl.-Gemischen identischer Erythrozyten-, Plasma- und NaCl-Konzentration zu arbeiten, um BKS-Werte verschiedener Gemische miteinander vergleichen zu können. Solche E.-Pl.-Gemische mit identischer Konzentration ihrer Bestandteile lassen sich auf folgende Weise herstellen: da durch Zusammengeben von mit NaCl gewaschenen Erythrozyten zu Plasma im Verhältnis 1 : 2 in dem E.-Pl.-Gemisch eine definierte Erythrozytenkonzentration entstehen soll, müssen die Erythrozyten durch Zentrifugieren gerade so dicht gepackt sein, daß sie die dreifache Konzentration der im Gemisch gewünschten haben. Dies ließ sich durch folgende genormten Bedingungen erreichen:

1. Menschliche Autosedimentation:

Die zweimal mit NaCl gewaschenen Erythrozyten wurden erneut in NaCl aufgeschwemmt und bei 1880 g zentrifugiert (Christ-Zentrifuge, Modell UJ 3). Die überstehende Flüssigkeit wurde mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und 0,5 ml der gepackten Erythrozyten zu 1 ml Plasma gegeben. Dann wurde die Erythrozytenkonzentration im Hämoskop gemessen: ausgehend von der gleichen Menge zentrifugierter Erythrozyten betrug sie stets 3,20 bis 3,40 Mill./cmm. Diese Schwankung ist dadurch zu erklären, daß es unmöglich ist, das überstehende NaCl stets in gleicher Menge zu entfernen. Durch Zugabe von Plasma : NaCl im Verhältnis 9 : 1

wurde vor Aufziehen des Gemisches in ein Senkungsrohr die gewünschte Erythrozytenkonzentration von 3,20 Mill./cmm eingestellt. Dieses Plasma-NaCl-Verhältnis ergab sich aus folgendem Ansatz: Es wurde berechnet, wieviel NaCl in dem E.-Pl.-Gemisch vorhanden ist, wenn durch Zugabe von 0,5 ml Erythrozyten zu 1 ml Plasma eine Erythrozytenkonzentration von 3,20 Mill./cmm entsteht. Hierzu mußte man berechnen, wieviel Raum die Erythrozyten in dem Gemisch einnehmen.

1 cmm enthält $3,20 \times 10^6$ Erythrozyten

in 1,5 ccm sind dann $1,5 \times 10^3 \times 3,2 \times 10^6$ Erythrozyten

Da jeder Erythrozyt vom Menschen ein Volumen von durchschnittlich 85×10^{-12} ccm hat²⁵⁾, nehmen die gesamten Erythrozyten in dem Gemisch folgendes Volumen ein:

$$1,5 \times 10^3 \times 3,2 \times 10^6 \times 85 \times 10^{-12} = 0,407 \text{ ccm.}$$

Da diese Erythrozyten in Form von 0,5 ml in NaCl gepackte Erythrozyten zu dem Plasma gegeben wurden, sind also $0,5 - 0,407 = 0,093$ ml NaCl in dem Gemisch. Das Verhältnis Plasma: NaCl beträgt dann $1 : 0,093 = 10,75 : 1$. Da bei einer Erythrozytenkonzentration von 3,20 Mill./cmm das Plasma-NaCl-Verhältnis entsprechend grösser als $10,75 : 1$ ist, wurde die Konzentration von 3,20 Millionen Erythrozyten / cmm durch Zugabe von Plasma : NaCl im Verhältnis $9 : 1$ eingestellt. Da insgesamt jeweils nur wenig Flüssigkeit zugegeben werden mußte, wirkte sich die Änderung der Konzentrationsverhältnisse der Bestandteile des Gemisches, die bei der Einstellung der Erythrozytenkonzentration von 3,20 Mill./cmm eintrat, wegen ihrer Geringfügigkeit nicht auf die BKS-Werte aus.

Prinzipiell läßt sich diese Methode zur Herstellung von E.-Pl.-Gemischen mit identischer Konzentration ihrer Bestandteile verallgemeinern. Es werden sich nur je nach den Ausgangsbedingungen (Zentrifugenart, Erythrozytenmenge,

Erythrozytenvolumen) die Zahlenwerte ändern, wie auch an der folgenden Beschreibung der Herstellung von E.-Pl.-Gemischen mit identischer Konzentration der Bestandteile bei der Heterosedimentation zu sehen ist.

2. Heterosedimentation.

a) Menschenerythrozyten und Schweineplasma:

Es wurde genauso wie bei der menschlichen Autosedimentation vorgegangen, nur daß pro E.-Pl.-Gemisch anstelle von 0,5 ccm Erythrozyten zu 1 ml Plasma 4 ml Erythrozyten zu 8 ml Plasma gegeben wurden. Die Endkonzentration der E.-Pl.-Gemische betrug auch stets 3,20 Mill./cmm.

b) Schweineerythrozyten und Menschenplasma:

Die in NaCl aufgeschwemmten Schweineerythrozyten wurden bei g in der beschriebenen Zentrifuge für 10 Minuten zentrifugiert. Nach Absaugen der überstehenden Flüssigkeit betrug die Erythrozytenkonzentration dann 9,60 Mill./cmm und somit nach Zugabe von 4 ml gepackter Erythrozyten zu 8 ml Plasma 3,20 Mill./cmm in dem E.-Pl.-Gemisch. Auch hier schwankte die Erythrozytenkonzentration zwischen 3,20 bis 3,40 Mill./cmm. Die gewünschten 3,20 Mill./cmm wurden eingestellt durch Zugabe von Plasma : NaCl im Verhältnis 4 : 1. Dieses Verhältnis ergab sich aus der Berechnung des NaCl-Anteils in dem E.-Pl.-Gemisch: Die Berechnung wurde entsprechend der bei der Autosedimentation ausgeführt, wobei ein Schweineerythrozytenvolumen von 58×10^{-12} angenommen wurde²⁵⁾. Der NaCl-Anteil in dem E.-Pl.-Gemisch betrug dann 1,773 ml. Das Plasma-NaCl-Verhältnis war also $8 : 1,773 = 4,511 : 1$. Die Konzentrationsverhältnisse der Senkungsgemische mit Menschen- und Schweineerythrozyten unterscheiden sich also voneinander, so daß sich die jeweiligen Senkungswerte nicht direkt mit einander vergleichen lassen.

In den nachfolgenden Untersuchungen wurden die E.-Pl.-Gemische, wenn nicht anders angegeben, stets in der be-

schriebenen Weise hergestellt.

Vor Beginn der Untersuchungen - B und C - wurde noch folgende Frage untersucht: Ist es sinnvoll, Hetero- und Homöosedimentation einerseits und Autosedimentation andererseits unter gemeinsamen Gesichtspunkten zu betrachten, da sie sich in Bezug auf die Streuung ihrer Senkungswerte unterscheiden? Diesem unterschiedlichen Verhalten stehen jedoch Übereinstimmungen in den Reaktionen auf charakteristische Variationen der Versuchsbedingungen gegenüber.

A.) Die Wärmeinaktivierung: Hält man bei der Autosedimentation Plasma vor Zugabe der Erythrozyten für einige Stunden bei 37° C, so ist die BKS stark verlangsamt⁴⁾. Auch bei der Homöosedimentation ist bekannt¹⁰⁾, daß sie verlangsamt ist, wenn sie mit einem Plasma angesetzt wird, das fünf Stunden bei 37° C gestanden hat. Es wurde nun untersucht, wie sich die Heterosedimentation aus Menschen- und Schweineblut unter diesen Bedingungen verhält. Beispiel: Schweineplasma und Menschenerythrozyten

1-Stundensenkungswert

Kontrolle	49 ± 3,86
5 Stdn. 37° C	3 ± 0,0

Ergebnis: Trotz sichtbarer Agglutinatbildung ist die Heterosedimentation wärmeinaktivierbar.

B.) Blockung: Durch Zugabe bestimmter niedermolekularer Substanzen in kleiner Menge zu dem E.-Pl.-Gemisch wird die Autosedimentation stark verlangsamt^{26,8)}. Es wurde nun untersucht, wie sich Homöo- und Heterosedimentation bei Zugabe von 1 mg Butazolidin / Senkungsansatz verhalten. Beispiel: Schweineplasma und Menschenerythrozyten

1-Stundensenkungswert

Kontrolle	99,3 ± 2,45
1 mg Butazolidin/ Senkungsansatz	2,0 ± 0,0

Ergebnis: Homöo- sowie Heterosedimentation lassen sich

durch Zusatz von Butazolidin zum E.-Pl.-Gemisch trotz sichtbarer Agglutinatbildung blocken.

Diese Übereinstimmung von Auto-, Homöo- und Heterosedimentation in den Reaktionen auf eine Temperatur von 37° C und auf den Zusatz bestimmter Substanzen legen es nahe, diese 3 Senkungsarten weiterhin gemeinsam unter dem Oberbegriff BKS einzuordnen.

B) Untersuchungen an der Heterosedimentation:

Im folgenden wird die Frage untersucht, ob die die Heterosedimentation unmittelbar bedingenden Faktoren an der Erythrozytenoberfläche und die Plasmafaktoren bei erbgleichen Individuen identisch sind und wieweit ihre Ausbildung umweltabhängig ist. Da jede Merkmalsausbildung durch das Zusammenspiel von Genwirkungen und Umwelteinflüssen zustandekommt, wurden diese Untersuchungen an erbgleichen Individuen aus gleicher Umwelt begonnen, und zwar zunächst an 4 Rattenzuchtstämmen: BAL, Wistar, Sprague Dawley, BDIII. Die Tiere lebten in gleicher Umwelt; sie wurden mit Futtermischen (Altrogge, Lage/Lippe) und Wasser ad lib. ernährt.

In Vorversuchen wurden die Blute mehrerer Species mit Blut der Rattenstämmen kombiniert, um eine brauchbare Heterosedimentation zu finden:

a) Hierfür wurden E.-Pl.-Gemische aus Erythrozyten der 4 Inzuchtstämmen mit Plasmen von Mensch, Pferd, Kaninchen, Rind oder Schwein hergestellt und deren Senkungswerte bestimmt.

Ergebnis: Nur in Schweineplasma ergeben Rattenerythrozyten Senkungen, deren 1-Stundenwert über 10 liegt.

b) Entsprechend wurden die Senkungswerte von Erythrozyten der aufgezählten Species in Rattenplasma bestimmt.

Ergebnis: Alle Kombinationen ergeben 1-Stundensenkungswerte kleiner als 10.

Da die Ratten in keiner der untersuchten Heterosedimentationen senkungsaktive Plasmafaktoren aufwiesen, wurde versucht, solche auf folgende Weise hervorzurufen: Ratten erhielten eine i.v.-Injektion von 1 ml Schweineblut und nach 5 Tagen weitere 0,5 ml Schweineblut i.v. Am 15. Tag nach Sensibilisierungsbeginn wurde das Rattenplasma gewonnen und mit Schweineerythrozyten zur Heterosedimentation angesetzt.

Ergebnis: In den ersten 2 Minuten fiel die BKS auf den Wert 4, um dann auf diesem Wert zu verharren. Daß die Ratten durch die Vorbehandlung gegen Schweineerythrozyten Antikörper gebildet hatten, war an der schon makroskopisch sichtbaren Agglutinatbildung abzulesen; selbst bei einer Verdünnung des Plasmas mit NaCl im Verhältnis 1 : 20 war die Agglutinatbildung noch erkennbar.

Es war also nicht möglich, bei Ratten Plasmafaktoren zu erzeugen, die mit geeigneten Erythrozyten eine Heterosedimentation bedingen. An Rattenplasma lassen sich also mit den getesteten Erythrozyten keine Untersuchungen über die Plasmafaktoren der Heterosedimentation durchführen.

Es wurde nun geprüft, ob sich die bei der Heterosedimentation aus Rattenerythrozyten und Schweineplasma beteiligten Erythrozytenrezeptoren bei den vier verschiedenen Inzuchtstämmen unterscheiden. Hierfür wurden Erythrozyten von je 4 Ratten der Inzuchtstämmen für jedes E.-Pl.-Gemisch gewonnen, da eine Ratte nicht genügend Blut hat, um Erythrozyten für 8 Senkungen zu liefern. Es wurden dann E.-Pl.-Gemische aus Erythrozyten der 4 Inzuchtstämmen und verschiedenen Schweineplasmen hergestellt und deren Senkungswerte bestimmt.

Ergebnis: Die Erythrozyten der vier Inzuchtstämmen ergeben in gleichen Schweineplasmen übereinstimmende Senkungswerte; wohl unterscheiden sich die Werte bei Verwendung an-

derer Schweineplasmen. Die bei der Heterosedimentation aus Schweineplasma und Rattenerythrozyten wirksamen Faktoren der Erythrozytenoberfläche unterscheiden sich also nicht nachweisbar bei den untersuchten Ratteninzuchtstämmen.

Da bei Verwendung von Ratten als erbgleichen Individuen wegen ihrer geringen Blutmenge keine Untersuchungen über das Verhalten der an der Heterosedimentation beteiligten Faktoren bei Einzelindividuen angestellt werden konnten und außerdem bei diesen Tieren keine wirksamen Plasmafaktoren zu finden waren, wurden die Untersuchungen an einer Heterosedimentation fortgesetzt, bei der die erbgleichen Individuen a) einzeln ausreichend Blut spenden können und b) wirksame Erythrozyten und Plasmafaktoren besitzen. Diese Voraussetzungen erfüllte die Heterosedimentation aus Menschen- und Schweineblut: sowohl Menschenerythrozyten in Schweineplasma wie Schweineerythrozyten in Menschenplasma ergeben Senkungen, deren 1-Stundenwerte über 10 liegen.

An dieser Kombination wurde daher die Frage untersucht, ob die an der Heterosedimentation beteiligten Erythrozytenoberflächen- und Plasmafaktoren bei erbgleichen Individuen identisch sind und wie weit die Umwelt ihre Ausbildung beeinflusst. Hierzu wurden die Eigenschaften dieser Faktoren beim Menschen durch Kombination von Blut folgender Menschengruppen mit Schweineblut zur Heterosedimentation charakterisiert und verglichen:

- a) genetisch identische Menschen (eineieiige Zwillinge) aus ähnlicher Umwelt;
- b) genetisch verschiedene Menschen (zweieiige Zwillinge) aus ähnlicher Umwelt. Für diese Gruppe wurden Zwillinge mit gleicher ABO-Blutgruppe ausgesucht, weil die Möglichkeit besteht, daß auch bei der Heterosedimen-

tation, wie bei der Isosedimentation, die Blutgruppenfaktoren eine Rolle spielen.

- c) genetisch verschiedene, aber blutgruppengleiche Menschen aus anderen Umwelten.
- d) genetisch unterschiedliche Menschen aus anderen Umwelten mit verschiedenen ABO-Blutgruppen.

Innerhalb dieser Gruppen wurden also jeweils mehrmals die Senkungseigenschaften von Erythrozyten und Plasma von zwei Menschen verglichen, indem die Erythrozytenfaktoren durch Senken der Erythrozyten in Schweineplasma und die Plasmafaktoren durch Senken von Schweineerythrozyten in den Menschenplasmen zunächst charakterisiert wurden.

Da aus technischen Gründen an einem Tag nur die Erythrozyten oder die Plasmafaktoren von zwei Menschen charakterisiert werden konnten, Plasma und Erythrozyten aber gleichzeitig gewonnen wurden, mußte nach einer Methode gesucht werden, die Plasmafaktoren der Heterosedimentation für längere Zeit zu konservieren. Es wurde deshalb in mehreren Versuchen ein Teil eines Plasmas für 24 Stunden bei Zimmertemperatur, ein anderer Teil für 24 Stunden bei -23°C gehalten. Mit beiden Teilen wurden vergleichende Heterosedimentationen angestellt:

Beispiel: Schweineplasma und Menschenerythrozyten

1-Stundensenkungswert

Zimmertemperatur	$40,6 \pm 3,36$
-23°C	$18,8 \pm 2,48$

Ergebnis: Durch diese Gefrierbehandlung nimmt sowohl die Senkungskraft von Menschen- wie von Schweineplasma ab, bleibt aber noch deutlich ausgeprägt. Dieser Einfluß des Einfrierens und Auftauens auf die Senkungsaktivität von Plasmen unterscheidet sich im Ausmaß von Plasma zu Plasma.

Die folgenden Versuche an der Heterosedimentation wurden, wenn nicht anders angegeben, mit Plasmen ausgeführt,

die mindestens 24 Stunden bei -23° C gestanden hatten.

Als erstes zeigte sich, daß die Erythrozyten denselben Menschen mit jedem Schweineplasma charakteristische Senkungswerte ergeben. Tabelle 3 zeigt ein Beispiel, bei dem Erythrozyten eines Menschen in 4 verschiedenen Schweineplasmen zur Heterosedimentation angesetzt wurden.

Schweine- plasma \ Stunden	1/2	1	2
I	40,8 $\pm$ 1,14	85,1 $\pm$ 3,24	107,2 $\pm$ 0,90
II	17,2 $\pm$ 1,30	42,1 $\pm$ 4,01	78,0 $\pm$ 4,78
III	20,5 $\pm$ 2,20	61,8 $\pm$ 2,68	90,1 $\pm$ 2,36
IV	60,5 $\pm$ 3,77	97,0 $\pm$ 3,12	112,0 $\pm$ 0,86

Tabelle 3

Entsprechend verhalten sich die menschlichen Plasmafaktoren: auch sie ergeben durch Kombination mit Erythrozyten von mehreren Schweinen jeweils charakteristische Senkungswerte. Tabelle 4 zeigt ein Beispiel: es wurde Plasma eines Menschen mit Erythrozyten von drei verschiedenen Schweinen zur Heterosedimentation kombiniert.

Schweine- erythrozyten \ Stunden	1/2	1	2
I	16,2 $\pm$ 1,13	72,3 $\pm$ 1,74	86,6 $\pm$ 0,41
II	59,3 $\pm$ 1,91	100,0 $\pm$ 0,00	111,2 $\pm$ 0,36
III	32,6 $\pm$ 3,43	77,2 $\pm$ 4,46	90,3 $\pm$ 0,32

Tabelle 4

Um die entsprechenden Rezeptoren von Erythrozyten zweier Menschen miteinander zu vergleichen, wurden in nachfolgenden Untersuchungen diese Erythrozytenfaktoren durch Kombination der Erythrozyten der beiden Menschen mit 4 verschiedenen Schweineplasmen zur Heterosedimentation charakterisiert. Die Senkungswerte von Erythrozyten der beiden Menschen in gleichen Schweineplasmen wurden miteinander verglichen und die sich ergebenden Unterschiede in Form einer Masszahl angegeben. Diese Masszahl wurde jeweils auf folgende Weise gewonnen: Es wurden wie beschrieben E.-Pl.-Gemische aus den Erythrozyten zweier Menschen (M_1 und M_2) und 4 verschiedenen Schweineplasmen (Sch_1 , Sch_2 , Sch_3 und Sch_4) hergestellt. 2 Erythrozytensorten in 4 Schweineplasmen ergaben acht E.-Pl.-Gemische. Da jedes E.-Pl.-Gemisch in je 8 Senkungsröhrchen aufgezogen werden mußte, um brauchbare Senkungs-Mittelwerte zu ergeben, waren also insgesamt 64 Senkungen angesetzt. Bei diesen wurden jeweils die 1/2, 1 und 2-Stundenwerte abgelesen. Bei den 8 E.-Pl.-Gemischen wurden für die 3 Zeitwerte die Mittelwerte und deren Streuung berechnet. Tabelle 5 zeigt das Ergebnis an einem Beispiel.

Die zeitlich sich entsprechenden Mittelwerte für die beiden Individuen wurden dann auf Unterschiedlichkeit geprüft nach der Formel

$$\frac{m_{diff}}{\bar{s}_{diff}}, \text{ wobei } \bar{s}_{diff} = \bar{s}_1^2 + \bar{s}_2^2 \text{ ist.}$$

Tabelle 6 zeigt das Ergebnis:

Schweine- plasma \ Stunden	1/2	1	2
I	1,980	3,017	2,482
II	0,333	0,885	0,132
III	1,132	1,108	0,678
IV	1,742	0,852	0,652

Tabelle 6

Plasma	Sch ₁		Sch ₂		Sch ₃		Sch ₄		Mittelwert s
Stunden Erythrozyten	1/2	1	2	1/2	1	2	1/2	1	2
	24,2	60,1	90,0	43,6	93,5	114,5	25,7	63,7	97,0
M ₁	+2,18	+2,32	+1,89	+2,64	+3,81	+1,19	+1,25	+4,91	+3,84
							+3,56	+4,94	+1,68
M ₂	18,8	49,6	83,0	45,2	88,8	114,7	28,6	72,7	100,7
	+1,62	+2,59	+2,10	+4,01	+3,68	+0,92	+2,24	+6,45	+3,84
							+1,75	+6,37	+1,57

Tabelle 5

In diesem Beispiel liegen alle zwölf vergleichbaren Mittelwerte innerhalb der $3\bar{s}$ Grenze. Da jede dieser Zahlen einzeln ein Ausdruck der Unterschiede der Erythrozytenfaktoren der beiden untersuchten Individuen darstellt, wurde aus ihnen das arithmetische Mittel gewonnen: in diesem Beispiel ergibt sich die Masszahl 1,249. Ist diese Masszahl, die sich aus dem Vergleich von 32 Zahlenpaaren ergibt 3,25, so ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,27\%$ ²⁷⁾; d.h. entsprechend gewonnene Masszahlen, die grösser sind als 3,25, zeigen an, daß es sich statistisch nachgewiesen um unterschiedliche Erythrozytenfaktoren handelt. Masszahlen, die kleiner als 3,25 sind, ergeben, daß sich die Erythrozytenfaktoren bei dieser Heterosedimentation nicht statistisch nachweisbar unterscheiden.

Die Plasmafaktoren von zwei Individuen wurden auf die entsprechende Weise verglichen, indem das Plasma von jedem der beiden mit Erythrozyten von drei Schweinen kombiniert wurde. Nach Bestimmung der Senkungswerte wurde die obige Berechnung angestellt; das Ergebnis ist eine Masszahl für die Unterschiede der Plasmafaktoren der beiden Individuen. Diese Masszahl stammt aus dem Vergleich von 24 Zahlenpaaren. Masszahlen, die grösser als 3,34 sind²⁷⁾, zeigen also an, daß es sich statistisch nachgewiesen um unterschiedliche Plasmafaktoren handelt. Die folgenden Untersuchungen sind in Form dieser Masszahlen ausgewertet:

1.) Da das Schweineblut vom Schlachthof geholt wurde und so von jedem Schwein nur einmal Blut gewonnen werden konnte, wurde zunächst untersucht, ob sich Schweineblut über längere Zeit bei -23°C konservieren läßt, ohne daß sich seine Senkungseigenschaften ändern. Es wäre dann möglich, mit einem eingefrorenen Schweineplasma an verschiedenen Tagen die Faktoren von menschlichen Erythrozyten vergleichbar zu charakterisieren. Deshalb wurde Schweineplasma in 2 Portionen eingefroren, dann in wechselnden Zeitabständen von 5

Menschen je zweimal Erythrozyten gewonnen und hiermit die Senkungsaktivität der Schweineplasmen an den Tagen der Erythrozytengewinnung bestimmt. Die Versuche wurden mit jeweils vier Schweineplasmen durchgeführt, von denen je eine der Portionen an den beiden Tagen aufgetaut und verwandt wurde. Die Senkungswerte, die sich aus dieser Kombination der Erythrozyten desselben Menschen mit Portionen der gleichen Schweineplasmen an den beiden Tagen ergaben, wurden miteinander verglichen. Tabelle 7 zeigt das Ergebnis in Form der Masszahlen:

Mensch	Zeitabstand in Tagen	Masszahl
I	56	1,614
II	19	1,214
III	19	2,705
IV	33	1,857
V	33	2,286

Tabelle 7

Ergebnis: Die Senkungswerte stimmten weitgehend überein, denn die Masszahlen sind kleiner als 3,25. Diese Versuche zeigen erstens: ein bei -23° C eingefrorenes Schweineplasma hält seine Senkungsaktivität gegenüber menschlichen Erythrozyten über Wochen konstant. Zweitens ergibt der positive Ausgang des Versuches, daß an verschiedenen Tagen gewonnene Erythrozyten eines Menschen jeweils eine ähnliche Empfindlichkeit der Erythrozytenoberfläche gegenüber denselben Schweineplasmen haben. Es ist also möglich, mit dem gleichen eingefrorenen Schweineplasma an verschiedenen Tagen Eigenschaften von Erythrozytenoberflächen zu bestimmen und zu vergleichen; Unterschiede sind dann im wesentlichen durch verschieden ansprechbare Erythrozytenfaktoren bedingt.

2.) Es wurde untersucht, ob ein an einem bestimmten Tag gewonnenes Menschenplasma, in verschiedenen Portionen zur gleichen Zeit eingefroren, die gleiche Senkungsaktivität gegenüber Schweineerythrozyten besitzt. Hierfür wurden die gleichen Schweineerythrozyten mit mehreren zu gleicher Zeit eingefrorenen Plasmaportionen derselben Menschen zur BKS angesetzt.

Ergebnis: Die Senkungswerte der verschiedenen Portionen desselben Menschenplasmas mit gleichen Schweineerythrozyten lagen innerhalb der $3 \bar{s}$ Grenze; d.h. die Senkungskraft von eingefrorenem Menschenplasma ändert sich wenn überhaupt, dann gleichmässig pro Zeiteinheit. Es ist also möglich, mit Menschenplasma, das zur gleichen Zeit gewonnen und eingefroren wird, an einem bestimmten Tag die Eigenschaften von gleichen Schweineerythrozyten zu testen; Unterschiede beruhen dann im wesentlichen auf verschieden wirksamen Plasmafaktoren.

3.) Es wurde geprüft, ob Menschenplasma, das an zwei verschiedenen Tagen gewonnen und eingefroren wird, die gleiche Senkungsaktivität besitzt. Hierzu wurden diese beiden Plasmaproben desselben Menschen an einem bestimmten Tag mit denselben Schweineerythrozyten zur BKS kombiniert. Beide Plasmen hatten also unterschiedliche Zeiten bei -23°C gestanden. Die Untersuchungen wurden mit Plasmen von 5 Menschen durchgeführt, die jeweils mit Erythrozyten von drei Schweinen zur Senkung kombiniert wurden. Tabelle 8 zeigt das Ergebnis in Form der Masszahlen:

Mensch	Zeitabstand in Tagen	Masszahl
I	56	1,206
II	19	4,496
III	19	5,098
IV	33	11,868
V	33	5,867

Tabelle 8

Ergebnis: Die Werte sind zum Teil grösser als 3,34. Das zeigt: ein Plasma, das an verschiedenen Tagen von demselben Menschen gewonnen und eingefroren wird, besitzt gegenüber den gleichen Schweineerythrozyten nicht die gleiche Senkungsaktivität; ob dieses an der unterschiedlichen Einfrierzeit liegt oder an der Veränderung der Plasmafaktoren in vivo, kann durch diesen Versuch nicht beantwortet werden.

4.) Es wurden Versuche zu der Frage angestellt, ob die an der Heterosedimentation beteiligten Erythrozyten- und Plasmafaktoren bei erbgleichen Individuen identisch sind und wie weit die Umwelt ihre Ausbildung beeinflusst. Hierzu wurden diese Faktoren wie auf Seite 22 beschrieben bei folgenden Menschen miteinander verglichen:

A) Erbgleiche Menschen aus ähnlicher Umwelt.

a) Es wurden die Erythrozytenfaktoren von 5 männlichen eineiigen Zwillingspaaren aus ähnlicher Umwelt mit je 4 verschiedenen Schweineplasmen zur Heterosedimentation kombiniert, die Senkungswerte bestimmt und die sich entsprechenden Werte miteinander verglichen. Tabelle 9 zeigt das Ergebnis in Form der Masszahlen:

Eineiiges Zwillingspaar	Masszahl
I	1,683
II	2,754
III	1,754
IV	1,597
V	1,249

Tabelle 9

Ergebnis: Da die Masszahlen alle kleiner als 3,25 sind, kann man sagen, daß die Erythrozytenoberflächenfaktoren von erbgleichen Menschen aus ähnlicher Umwelt sich nicht statistisch

nachweisbar unterscheiden.

b) Es wurden die Plasmafaktoren von je zwei erbgleichen Individuen aus ähnlicher Umwelt miteinander verglichen. Das Plasma von 4 männlichen eineiigen Zwillingspaaren wurde mit Erythrozyten von jeweils 3 verschiedenen Schweinen kombiniert und die Unterschiede der Plasmafaktoren der Zwillinge in Form der Masszahlen berechnet. Tabelle 10 zeigt diese Zahlen:

Eineiiges Zwillingspaar	Masszahl
I	4,872
II	3,528
III	3,680
IV	10,167

Tabelle 10

Ergebnis: Die Masszahlen sind grösser als 3,34; demnach können sich die Plasmafaktoren von erbgleichen Individuen aus ähnlicher Umwelt unterscheiden.

B) Genetisch unterschiedliche Menschen aber mit gleicher ABO-Blutgruppe aus ähnlicher Umwelt.

a) Es wurde wie in Versuch A)a) vorgegangen, nur waren die Erythrozytenspender zweieiige männliche Zwillingspaare anstelle von eineiigen männlichen Zwillingspaaren. Das Ergebnis zeigt Tabelle 11:

Zweieiiges Zwillingspaar gleicher ABO-Blutgruppe	Masszahl
I	2,281
II	1,760
III	1,936
IV	3,259
V	0,825

Tabelle 11

Ergebnis: Die Masszahlen sind kleiner als 3,25, d.h. die Erythrozytenfaktoren von genetisch unterschiedlichen Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe aus ähnlicher Umwelt unterscheiden sich nicht statistisch nachweisbar.

b) Es wurden in der unter A)b) beschriebenen Weise die Plasmafaktoren von 5 zweieiigen männlichen Zwillingspaaren mit gleicher ABO-Blutgruppe aus ähnlicher Umwelt miteinander verglichen. Tabelle 12 zeigt das Ergebnis:

Zweieiiges Zwillingspaar gleicher ABO-Blutgruppe	Masszahl
I	10,080
II	1,984
III	2,474
IV	2,480
V	9,085

Tabelle 12

Ergebnis: Die Werte sind zum Teil bedeutend grösser als 3,34; die Plasmafaktoren von genetisch verschiedenen Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe aus ähnlicher Umwelt können sich also unterscheiden.

C) Genetisch unterschiedliche Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe aus verschiedenen Umwelten.

a) Es wurden fünfmal die Erythrozytenfaktoren von je 2 nicht verwandten männlichen Blutspendern mit gleicher ABO-Blutgruppe verschiedenen Alters und aus anderen Umwelten miteinander verglichen: es wurde wie unter A)a) vorgegangen. Tabelle 13 zeigt das Ergebnis:

nicht verwandte Menschen gleicher ABO-Blutgruppe		Masszahl
I	AB/AB	2,643
II	O / O	1,378
III	A ₁ /A ₁	0,911
IV	O / O	1,713
V	B / B	2,579

Tabelle 13

Ergebnis: Die Werte sind kleiner als 3,25; das bedeutet, daß sich die Erythrozytenfaktoren von genetisch verschiedenen Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe aus anderen Umwelten nicht statistisch nachweisbar unterscheiden.

b) Es wurden fünfmal die Plasmafaktoren von je 2 Menschen mit genetischen Unterschieden aber gleicher ABO-Blutgruppe verschiedenen Alters aus anderen Umwelten miteinander verglichen, und zwar durch eine dem Versuch A)b) entsprechende Versuchsanordnung. Tabelle 14 zeigt das Ergebnis:

nicht verwandte Menschen gleicher ABO-Blutgruppe		Masszahl
I	AB / AB	3,988
II	O / O	14,175
III	A ₁ / A ₁	7,332
IV	O / O	2,652
V	B / B	35,408

Tabelle 14

Ergebnis: Die Plasmafaktoren von genetisch unterschiedlichen Menschen aus verschiedenen Umwelten mit gleicher ABO-Blutgruppe unterscheiden sich.

D) Genetisch unterschiedliche Menschen einschliesslich verschiedener ABO-Blutgruppen aus anderen Umwelten.

a) Es wurden fünfmal die Erythrozytenfaktoren von je 2 nicht verwandten männlichen Blutspendern mit verschiedener ABO-Blutgruppe, verschiedenem Alter und aus anderen Umwelten verglichen. Hierbei wurde wie in Versuch A)a) vorgegangen. Tabelle 15 zeigt das Ergebnis:

nicht verwandte Menschen verschiedener ABO-Blutgruppe		Masszahl
I	O/A	9,643
II	O/A	6,261
III	AB/O	3,868
IV	O/B	4,644
V	A/B	4,258

Tabelle 15

Ergebnis: Die Erythrozytenfaktoren von genetisch unterschiedlichen Menschen aus verschiedenen Umwelten mit unterschiedlicher ABO-Blutgruppe unterscheiden sich deutlich.

b) Es wurden die Plasmafaktoren von Menschen dieser Gruppe miteinander verglichen. Tabelle 16 zeigt das Ergebnis:

nicht verwandte Menschen verschiedener ABO-Blutgruppe		Masszahl
I	C/B	41,523
II	AB/O	16,590
III	O/A	28,092
IV	O/A	4,253
V	O/B	2,746

Tabelle 16

Ergebnis: Die Plasmafaktoren von Menschen mit verschiedenem genetischen Material einschließlich unterschiedlicher ABO-Blutgruppe aus verschiedenen Umwelten unterscheiden sich von einander.

Diese Untersuchungen haben also ergeben:

1.) Die an der Heterosedimentation aus Menschenerythrozyten und Schweineplasma beteiligten Erythrozytenfaktoren verhalten sich wie die ABO-Blutgruppenrezeptoren; Menschen mit unterschiedlicher ABO-Blutgruppe haben verschiedene Erythrozytenrezeptoren, Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe haben gleich erscheinende Erythrozytenrezeptoren; Umwelteinflüsse verändern diese Rezeptoren nicht, denn die Erythrozytenfaktoren von Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe aus verschiedenen Umwelten verhalten sich gleich.

2.) Die an der Heterosedimentation aus Menschenplasma und Schweineerythrozyten beteiligten Plasmafaktoren unterscheiden sich bei erbgleichen Menschen aus ähnlicher Umwelt. Ob es sich hierbei um quantitative oder qualitative Unterschiede handelt, kann durch die Versuche nicht beantwortet werden. Die Plasmafaktoren von genetisch unterschiedlichen Menschen aus ähnlicher oder verschiedener Umwelt mit oder ohne gleicher ABO-Blutgruppe unterscheiden sich ebenfalls.

C.) Untersuchungen an der Autosedimentation. Es wurde versucht, die allgemeinen Ursachen wie Carcinom oder Entzündung zu analysieren, die für die Entstehung der Autosedimentation und somit für das Auftreten der spezifischen Plasmafaktoren, der Agglomerine, verantwortlich gemacht werden. Deshalb wurden bei Kaninchen definierte Reize gesetzt und geprüft, ob bei ihnen eine beschleunigte BKS auftritt.

Für das Kaninchen ist bisher keine beschleunigte Autosedimentation bekannt. Bei anderen Tieren ist sie in einzelnen Fällen beobachtet worden: bei Pferden ist die BKS stets

beschleunigt²⁸⁾. Weiter wurde sie beschrieben bei an Myelom erkrankten Mäusen⁸⁾, bei Ratten nach Injektion von Hefe²⁹⁾ und in geringem Ausmaß bei tuberkulösen Meerschweinchen³⁰⁾ und bei röntgenbestrahlten Hunden³¹⁾. Im Laufe dieser Arbeit wurden von 31 Schweinen aus dem Schlachthof die Autosedimentationen bestimmt; 10 dieser Tiere hatten 1-Stundensenkungswerte, die zwischen 10 und 86 lagen; die Erythrozytenkonzentration dieser Tiere war normal.

Da während des Vorhandenseins der beschleunigten BKS beim Menschen meistens irgendwelche Entzündungsvorgänge im Organismus zu finden sind, wurde die Arbeitshypothese aufgestellt, daß Zerfallsprodukte körpereigener oder -fremder Zellen die Entstehung der Agglomerine auslösen. Um diese Hypothese experimentell zu prüfen, wurden Colibakterien in verschiedene Zellfraktionen zerlegt (allgemeine Methodik). Die senkungserzeugenden Eigenschaften dieser Fraktionen wurden beim Kaninchen getestet. Der Test verlief, wenn nicht anders angegeben, stets in folgender Weise: eine bestimmte Menge der jeweiligen Fraktion wurde in 10,0 ml Phosphatpuffer gelöst und einem Kaninchen intravenös injiziert. In verschiedenen Abständen erfolgte die Bestimmung der BKS der gespritzten Tiere, indem Citratblut von den Kaninchen gewonnen und zur BKS in Westergren-Röhrchen aufgezogen wurde. Nach 1/2, 1 und 2 Stunden wurden die Senkungswerte abgelesen. Gleichzeitig erfolgte die Bestimmung der Erythrozytenkonzentration im Citratblut der Tiere. Bei unbehandelten Kaninchen lagen die 1-Stunden-Senkungswerte zwischen 1 und 3, wie es auch aus der Literatur bekannt ist³²⁾. Bei folgenden Untersuchungen werden 1-Stunden-Senkungswerte, die grösser als 10 sind, als beschleunigte BKS angegeben:

1) In Tabelle 17 sind die Colifraktionen zusammengestellt, deren senkungserzeugenden Eigenschaften beim Kaninchen getestet wurden; außerdem ist das Ergebnis der Testung angegeben:

Colizellfraktion	injizierte Menge/Tier	BKS
RNP-Partikel	1/2 - 5 mg	(+)
14-Stunden-Überstand	2 - 5 ml	(+)
RNS aus den RNP-Partikeln	3 -10 mg je nach RNS- Präparation	(+)
Phenol-Protein aus den RNP-Partikeln	ca.1 mg	(+)
Biogene Amine (Cadave- rin, Spermidin, Putres- cin)	je 1 mg	(-)

Zeichenerklärung: (+) 1-Stundensenkungswert > 10
 (-) 1-Stundensenkungswert < 10

Tabelle 17

Ergebnis: Verschiedene Zellfraktionen aus E. coli rufen beim Kaninchen eine beschleunigte Autosedimentation hervor, deren 1-Stundenwert grösser als 10 ist. Sie tritt 36-48 Stunden nach der Injektion der Fraktionen auf. Vorher sind die Tiere mehr oder weniger bewegungs- oder freßunlustig. Bei einer einmaligen Injektion erreicht die BKS am 4. bis 8. Tag nach der Injektion ihren Höhepunkt, um dann wieder abzunehmen. Abbildung 1 zeigt dies in Form von Kurven. Bei erneuter Injektion der Fraktion, einige Tage nach der ersten, bleibt die BKS länger erhalten; exakte Reihenversuche hierzu wurden aber nicht angestellt. Die Minimaldosis der einzelnen Zellfraktionen, mit denen noch eine beschleunigte BKS beim Kaninchen hervorgerufen werden konnte, schwankte von einer Präparation der Zellfraktionen zur anderen, obwohl die Präparationen stets gleichartig durchgeführt wurden.

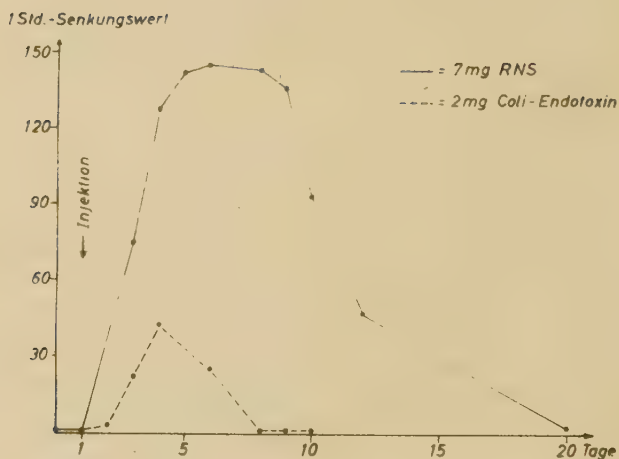


Abbildung 1

Blutkörperchensenkung bei Kaninchen nach i.v.
Injektion von Colizellfraktionen.

2) Versuche zur Charakterisierung der senkungserzeugenden Stoffe. Da mit verschiedenen Fraktionen aus *E. coli* bei Kaninchen eine beschleunigte BKS hervorgérufen werden kann, besteht die Möglichkeit, daß alle eine Beimengung eines bestimmten Stoffes enthalten, der für die Entstehung dieser BKS verantwortlich ist. Um zu prüfen, ob es RNS ist, die die BKS erzeugt, wurde RNS aus verschiedenen Geweben präpariert. Die Herstellung der RNS entsprach der Präparation der RNS aus *E. coli*. Tabelle 18 zeigt die getesteten RNS-Sorten und das Ergebnis der Testung:

RNS aus	injizierte RNS / Tier in mg	BKS
Hefe	4 - 50	(-)
Kaninchen- retikulozyten	11 - 20	(-)
Rattenleber	10 - 40	(-)
TMV	10 - 60	(-)

Tabelle 18

Ergebnis: Keine der getesteten RNS rief beim Kaninchen eine beschleunigte BKS hervor. Dieses Ergebnis macht es unwahrscheinlich, daß die Coli-RNS als solche beim Kaninchen wirksam ist. Um dieses zu beweisen, wurde die RNS aus E. coli mit Ribonuclease abgebaut: es wurde eine RNS-Präparation verwandt, von der 7 mg bei jedem Kaninchen eine beschleunigte BKS hervorriefen. Wie beschrieben, wurden hiervon 7 mg in 10 ml Phosphatpuffer gelöst. Dazu wurden dann 200 γ Pancreas-Ribonuclease gegeben und das Gemisch vor der Injektion 3 Stunden bei 37° C inkubiert.

Ergebnis: Die injizierten Tiere bekamen eine beschleunigte BKS in demselben Ausmaß wie Tiere, die mit unbehandelter RNS gespritzt worden waren. Es muß also ein anderer Stoff als RNS sein, der die beschleunigte BKS beim Kaninchen hervorruft.

Um die Spezifität dieses Stoffes einzuengen, wurden andere Stoffe auf ihre senkungserzeugenden Eigenschaften beim Kaninchen untersucht. Die Stoffe wurden, wenn nicht anders angegeben, vor der Injektion in 10 ml Phosphatpuffer gelöst. Tabelle 19 zeigt die getesteten Stoffe:

getestete Stoffe	injizierte Menge / Tier
menschliche Erythrozyten	0,5 ml einer 20%igen Erythrozyten-Suspension in NaCl
Coli-Phagen (T ₂ und T ₃)	3 x 10 ¹² Phagen
Tabakmosaikvirus	30 - 50 mg
Histamin	1 mg
Humanglobulin	30 mg
Casein	30 mg
Pferdehäoglobin	30 mg
Affenhäoglobin	30 mg

Tabelle 19

Ergebnis: Keiner dieser Stoffe rief beim Kaninchen eine beschleunigte BKS hervor, bis auf Coli-T₂-Phagen, die bei einem Tier eine BKS mit einem 1-Stundenwert von 45 bewirkten. Ob diese Phagen mit Colibestandteilen behaftet waren, ist nicht untersucht worden. Bei den Tieren, die mit menschlichen Erythrozyten, Coli-Phagen oder Tabakmosaikvirus behandelt worden waren, wurden Antikörper gegen die jeweiligen Antigene nachgewiesen; Antikörper als solche bedingen also keine beschleunigte BKS.

Die geschilderten Untersuchungen haben ergeben, daß eine andere Stoffklasse aus E. coli als RNS bei Kaninchen eine beschleunigte BKS hervorruft.

In verschiedenen Arbeitskreisen^{33,34)} sind aus Colibakterien die Endotoxine als Fraktionen mit vielfältiger biologischer Wirksamkeit isoliert worden. Es handelt sich dabei um Lipopolysaccharide. Ihre Einheitlichkeit ist noch nicht bewiesen. Die Reaktionen, die nach Injektionen von Coli-Endotoxinen entstehen, sind je nach Species und Individuum in Qualität und Quantität unterschiedlich. Die Beschreibung einer beschleunigten BKS nach Injektion von Coli-Endotoxinen oder Endotoxinen aus anderen Zellen war in der Literatur nicht zu finden.

Es wurde nun das Coli-Endotoxin Co 0111₃₁₁₆ S 4 auf seine senkungserzeugenden Eigenschaften beim Kaninchen untersucht: 1 bis 3 mg dieses Lipopolysaccharids wurden in 10 ml Phosphatpuffer gelöst und Kaninchen i.v. injiziert.

Ergebnis: Die gespritzten Tiere bekommen regelmässig eine beschleunigte BKS. Die Tiere und ihre BKS verhalten sich wie nach Injektion der anderen senkungserzeugenden Coli-fraktionen. Zur weiteren Charakterisierung des senkungserzeugenden Stoffes wurden bisher folgende Versuche, die in Tabelle 20 zusammengefaßt sind, angestellt:

Behandlung	E.coli-RNS aus RNP-Partikel	E.coli-14-Stun- den-Überstand	E.coli- Endotoxin
1-stündiges Kochen	nicht getestet	(-)	(+)
Abbau mit Hy- drolasengemisch aus Aspergillus oryzae (Boeh- ringer) 5 Stdn., 37° C	(+)	nicht getestet	(+)
Dialyse (36 Std. gegen Phosphat- puffer	nicht getestet	nicht getestet	(+)
Ultrafiltration	nicht getestet	(+)	(+)

Tabelle 20

Ergebnis: Der 14-Stundenüberstand und die endotoxische Lipopolysaccharidfraktion enthalten nicht dialysable und nicht ultrafiltrierbare senkungserzeugende Stoffe. Einstündiges Kochen beeinflusst die senkungserzeugende Aktivität des Endotoxins nicht; der 14-Stundenüberstand wird durch diese Behandlung inaktiv. Ein Hydrolasengemisch verändert weder die Aktivität der RNS-Fraktion noch die des Endotoxins. Die Versuche sprechen dafür, daß die senkungserzeugenden Colifractionen einen bestimmten senkungserzeugenden Stoff enthalten, der evtl. mit dem Endotoxin identisch ist. Endgültiges kann hierzu aber erst durch weitere Versuche ausgesagt werden.

3) Die Bestimmung der Erythrozytenkonzentration im Blut von Kaninchen mit beschleunigter BKS hat ergeben, daß die Tiere oft eine stark erniedrigte Erythrozytenanzahl besitzen; die niedrigen Erythrozytenkonzentrationen stehen aber nicht in direkter Beziehung zu der beschleunigten BKS: Eine niedrige Erythrozytenkonzentration kann von kleinen oder großen

BKS-Werten begleitet sein, wie auch eine normale Erythrozytenzahl mit normaler oder beschleunigter BKS zusammentrifft. Abbildung 2 zeigt dies in Form von Kurven.

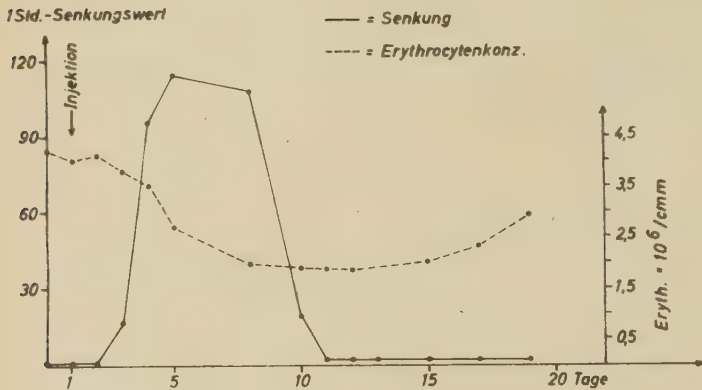


Abbildung 2

Blutkörperchensenkung und Erythrozytenkonzentration im Citratblut beim Kaninchen nach i.v. Injektion einer Colizellfraktion. "

4) Untersuchungen zur Charakterisierung der BKS beim Kaninchen: Die folgenden Versuche wurden an Senkungen ausgeführt, die durch Coli-Endotoxin hervorgerufen worden waren.

A) Es wurde geprüft, ob sich die Kaninchen-BKS a) blocken und b) wärmeinaktivieren läßt.

a) Es wurde bei beschleunigten Kaninchensenkungen zu genormten Senkungsansätzen je 1 mg Butazolidin gegeben.

Beispiel:

1-Stundensenkungswert

Kontroll BKS	22
BKS mit Butazolidin	6

Ergebnis: Die durch Coli-Endotoxin hervorgerufene Autosedimentation beim Kaninchen ist mit Butazolidin blockbar.

b) Plasma von Kaninchen mit beschleunigter BKS wurde 3 Stunden bei 37°C gehalten. Mit diesen Plasmen und den dazugehörigen Erythrozyten wurden genormte E.-Pl.-Gemische hergestellt und die Senkungswerte bestimmt.

Beispiel:

	1-Stundensenkungswert
Kontroll BKS	14
Plasma 3 Stdn. bei 37°C	2

Ergebnis: Die BKS beim Kaninchen ist wärmeinaktivierbar.

B) Es wurde untersucht, ob die beschleunigte BKS beim Kaninchen durch Fibrinogen bedingt ist.

a) Es wurden je 0,5 ml gewaschene Erythrozyten eines Kaninchens mit beschleunigter BKS zu 1 ml Plasma und zu 1 ml Serum dieses Tieres gegeben und die Senkungswerte bestimmt.

Beispiel:

	1-Stundensenkungswert
Plasmasenkung	47
Serumsenkung	9

Ergebnis: Die Werte der Serumsenkung liegen weit unter den Werten der Plasmasenkung.

Die beschleunigte BKS beim Kaninchen wird also weitgehend durch Faktoren bedingt, die bei der Gerinnung aus dem Plasma entfernt werden.

b) Es wurde nun geprüft, ob das Fibrinogen selbst die beschleunigte BKS verursacht oder ob bei der Gerinnung andere senkungsaktive Stoffe mitgerissen werden. Hierfür wurde der normale Fibrinogengehalt des Plasmas unbehandelter Kaninchen bestimmt; er beträgt 180 bis 250 mg%. Entsprechende Werte sind auch in der Literatur³²⁾ angegeben. Es wurden nun die BKS-Werte der mit Coli-Endotoxin behandelten Kaninchen mit den jeweiligen Plasma-Fibrino-

gen-Konzentrationen dieser Tiere verglichen. Abbildung 3 zeigt ein Beispiel:

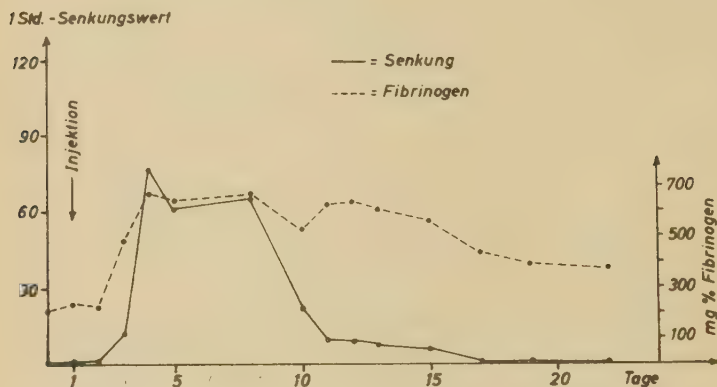


Abbildung 3 -

Blutkörperchensenkung und Plasmafibrinogenkonzentration beim Kaninchen nach i.v. Injektion von 2 mg Lipopolysaccharidfraktion.

Ergebnis: Die Fibrinogenkonzentration im Plasma der Tiere steigt ungefähr parallel zu der BKS an. Jedoch ist der Fibrinogenspiegel noch stark erhöht, wenn die BKS sich wieder normalisiert hat. Die gleiche Fibrinogenkonzentration kann also bei demselben Tier von einer stark beschleunigten oder einer normalen BKS begleitet sein.

Dieser Befund zeigt, daß das Fibrinogen bei der beschleunigten BKS des Kaninchens nicht die entscheidende Rolle spielt. Es müssen noch andere senkungsaktive Stoffe im Plasma sein, die bei der Fibrinbildung mitgerissen werden und deshalb im Serum nicht mehr vorhanden sind.

Die Untersuchungen an der Autosedimentation haben also zusammenfassend ergeben:

1. Zellfraktionen aus *E. coli* rufen beim Kaninchen 1 bis 2 Tage nach der Injektion eine beschleunigte BKS hervor,

die bei einmaliger Injektion 3 bis 10 Tage bestehen bleibt.

2. Die BKS beim Kaninchen ist blockbar und durch Wärme inaktivierbar.

3. Diese beschleunigte BKS wird durch Plasmafaktoren bedingt, die bei der Gerinnung mit dem Fibrinogen aus dem Plasma entfernt werden; die Plasmafaktoren sind aber nicht mit dem Fibrinogen identisch.

Diskussion.

Bei der Homöo- und Heterosedimentation kommt es zur Reaktion zwischen Erythrozyten und Plasma von genetisch verschiedenen Spendern. Ein ähnliches Reaktionssystem in vitro stellt die Agglutination von Zellen in anti-körperhaltigem Plasma dar, in vivo lassen sich damit Vorgänge bei der parabiologischen Vereinigung von Tieren³⁵⁾ oder bei der Transplantation von Geweben von einem Individuum zum anderen³⁶⁾ vergleichen.

Die Untersuchungen an der Heterosedimentation haben gezeigt, daß Erythrozyten von Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe sich bei der Kombination mit Schweineplasma gleich verhalten: es ergeben Erythrozyten mit gleichen ABO-Rezeptoren mit jedem Schweineplasma charakteristische Senkungswerte, die durch die sonstige genetische Konstitution und die Umwelt des Erythrozytenspenders nicht beeinflußt werden. Es bleibt die Frage offen, ob die Blutgruppenrezeptoren selbst an dieser Heterosedimentation beteiligt sind oder ob hierfür andere Faktoren an der Erythrozytenoberfläche verantwortlich sind, deren zugehörige Gene mit den Genen für die ABO-Rezeptoren gekoppelt vererbt werden. Die Untersuchungen schliessen auch die Möglichkeit nicht aus, daß die an dieser Heterosedimentation beteiligten Erythrozytenfaktoren bei Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe chemische Unterschiede aufweisen, denn jede Methodik bestimmt die Grenzen der Analyse; vielleicht lassen sich mit empfindlicheren Methoden als der Heterosedimentation noch individuelle Unterschiede aufdecken.

Die Plasmafaktoren, die an der Heterosedimentation von Schweineerythrozyten in Menschenplasma beteiligt sind, unterscheiden sich bei den einzelnen Menschen; dies

gilt auch für genetisch identische Menschen aus ähnlicher Umwelt. Auch bei denselben Menschen scheinen sie sich über die Zeit zu verändern. Die zugehörigen Gene werden also in ihrer Auswirkung ständig durch Umwelteinflüsse gesteuert, wie dies auch für die Antikörperbildung diskutiert wird.

Außerdem haben Untersuchungen an der Homöo- und Heterosedimentation ergeben: beide Senkungsarten sind durch Wärme inaktivierbar und lassen sich durch Zugabe bestimmter niedermolekularer Substanzen blocken. In beiden Fällen kommt es trotz gehemmter BKS zu sichtbarer Agglutinatbildung. Agglutinate als solche bedingen also noch keine beschleunigte BKS. Das zeigt auch der Befund, daß sich Schweineerythrozyten in Rattenplasma, das agglutinierende Antikörper gegen diese Zellen enthält, nicht beschleunigt senken. Damit stellt sich erneut die Frage, ob die gleichen Erythrozyten- und Plasmafaktoren, die die Homöo- und Heteroagglutination bedingen, auch für die Homöo- und Heterosedimentation verantwortlich sind; das unterschiedliche Verhalten von Agglutination und BKS beim Blocken und Wärmeinaktivieren zeigt, daß die Faktoren, die zur Agglutination führen, zumindest nicht ausreichen, um alle Vorgänge bei der Homöo- und Heterosedimentation zu erklären.

Die Untersuchungen an der Autosedimentation gingen von der Arbeitshypothese aus, daß als Reize der Agglomerinbildung Bestandteile körpereigener oder -fremder Zellen wirken, die beim Abbau dieser Zellen frei werden. Diese Hypothese konnte experimentell gestützt werden, indem gezeigt wurde, daß Zellfraktionen aus *E. coli* bei Kaninchen 1 bis 2 Tage nach der Applikation eine beschleunigte BKS bewirken. Diese BKS bleibt dann 3 bis 10 Tage bestehen. Auch mit Coliendotoxinen läßt sich diese beschleunigte BKS beim Kaninchen hervorrufen. Sie ist wärmeinaktivierbar und läßt

sich mit Butazolidin blocken. Es muß sich um spezifische Plasmafaktoren handeln, die die beschleunigte BKS beim Kaninchen bedingen. Diese Agglomerine werden bei der Gerinnung zum größten Teil zusammen mit dem Fibrinogen aus dem Plasma entfernt; denn die Erythrozyten von einem Kaninchen mit beschleunigter BKS senken sich im Serum dieses Tieres bedeutend langsamer als in dem zugehörigen Plasma. Die Agglomerine sind aber nicht mit dem Fibrinogen identisch. Dies zeigt der Befund, daß bei den Tieren etwa gleichzeitig mit der beschleunigten BKS zwar eine Fibrinogenvermehrung um das Zwei- bis Dreifache auftritt, diese aber die beschleunigte BKS um Tage überdauern kann.

Da diese Kaninchen-BKS in allen bisher untersuchten Eigenschaften der menschlichen beschleunigten BKS entspricht, scheint es berechtigt, die ebenfalls geringere Serumsenkung beim Menschen analog zu deuten: bei der Gerinnung werden die Agglomerine zum Teil durch das ausfallende Fibrin mitgerissen. Damit verlieren die Argumente gegen die Spezifität der Agglomerine, die aus der im Vergleich zur Plasmasenkung langsameren Serumsenkung gelegentlich abgeleitet wurden, weiter an Gewicht.

Die bisher bekannten Reaktionen, die im Empfängertier durch Endotoxine aus Colibakterien oder anderen Zellen ausgelöst werden, z.B. Leukozytose oder Erhöhung des Proerdinspiegels, deutet man als Abwehrreaktionen. So liegt es nahe, auch die Entstehung der Agglomerine unter diesem Gesichtspunkt zu sehen. Es läßt sich obige Arbeitshypothese dann dahin präzisieren, daß die beim Zellzerfall frei werdenden Fraktionen im RES die Bildung der Agglomerine bewirken. Die Agglomerine gelangen ins Blut und reagieren mit Zellrezeptoren im Gebiet des Zellzerfalls, z.B. im Entzündungsbereich und beeinflussen hierdurch die Vorgänge in diesem Gebiet. Diese Reaktion läßt sich an der beschleunigten BKS erkennen, da die Erythrozyten offenbar

ähnliche Rezeptoren besitzen, mit denen die Agglomerine in Form der beschleunigten BKS reagieren. Abbildung 4 zeigt diese Vorgänge schematisch. Es handelt sich hierbei noch weitgehend um theoretische Betrachtungen; doch gibt es Befunde aus der Endotoxinforschung, die diese Vermutung stützen: 1. Radioaktiv markierte Endotoxine findet man einige Stunden nach der Applikation vorwiegend im RES der Empfängertiere³⁷⁾. 2. Auch aus körpereigenen Zellen können Lipopolysaccharidfraktionen gewonnen werden, die in Empfängertieren gleichartige Reaktionen auslösen wie bakterielle Endotoxine³⁸⁾.

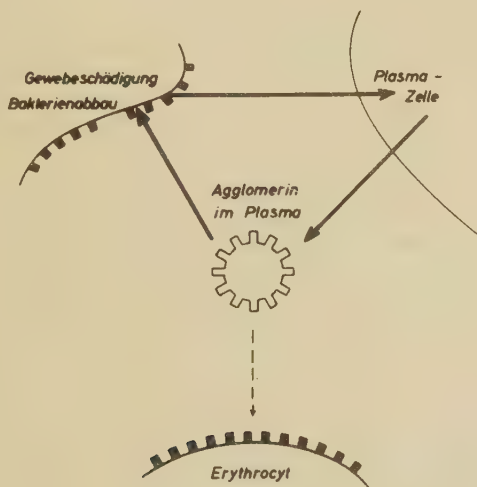


Abbildung 4
Schema der Wirkkette der Agglomerine.

Zusammenfassung.

1. a) Die Homöo- und Heterosedimentation sind durch eine Reihe niedermolekularer Substanzen blockbar.
b) Die Heterosedimentation läßt sich wärmeinaktivieren. Bei a) und b) wird die BKS trotz sichtbarer Agglutinatbildung gehemmt. c) In Rattenplasma, das agglutinierende Antikörper gegen Schweineerythrozyten enthält, ist die Sedimentation von Schweineerythrozyten nicht beschleunigt.

Diese drei Befunde zeigen, daß die Agglutinatbildung als solche nicht ausreicht, um eine beschleunigte BKS zu bedingen.

2. Die Erythrozyten von Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe ergeben in Schweineplasma statistisch nicht unterscheidbare Senkungswerte; die für diese Heterosedimentation notwendigen Erythrozytenrezeptoren verhalten sich also gleich bei Menschen mit gleicher ABO-Blutgruppe. Die Ausbildung dieser Rezeptoren scheint unabhängig zu sein von dem übrigen Genom und der Umwelt der Erythrozytenspender.

3. Die Ausbildung der Plasmafaktoren, die an der Heterosedimentation aus Schweineerythrozyten und Menschenplasma beteiligt sind, ist stark umweltabhängig; denn genetisch identische Menschen aus ähnlicher Umwelt besitzen oft verschieden wirksame Plasmafaktoren.

4. Beim Kaninchen entsteht eine beschleunigte Autosedimentation ein bis zwei Tage nach intravenöser Injektion verschiedener Coli-Zellfraktionen. Das gleiche gilt für die Injektion von Coliendotoxinen.

5. Diese BKS ist durch das Auftreten von spezifischen Plasmafaktoren bedingt, die bei der Gerinnung zum Teil mit dem Fibrinogen aus dem Plasma entfernt werden. Sie sind aber nicht mit dem Fibrinogen identisch, denn das Fibrinogen im Plasma solcher Tiere ist zwar nach der Applikation von Colifractionen um das 2- bis 3-fache vermehrt, diese Vermehrung überdauert aber die beschleunigte BKS oft um mehrere Tage.

6. Die Erythrozytenkonzentration der Tiere vermindert sich nach Injektion von Coliendotoxin um 1 bis 2 Millionen pro cmm Citratblut ohne direkte Beziehung zu den BKS-Werten.

7. Die beschleunigte BKS beim Kaninchen ist blockbar und läßt sich durch Wärme inaktivieren.

Literaturverzeichnis

- 1) Hewson, Works ed. Gulliver, London (1846);
- 2) Nasse, Das Blut, Bonn (1836);
- 3) Biernacki, E.: Z.physiol.Chem. 19, 179 (1894);
- 4) Fåhræus, R.: Acta med.scand. 55, 1 (1921);
- 5) Bergenhem, B. u. R.Fåhræus: Z.ges.exper.Med. 97, 555 (1936);
- 6) Bergenhem, B.: Exp.Untersuch.über Veränd.d.Blutes in vitro, Kopenhagen (1939);
- 7) Ruhenstroth-Bauer, G.: Acta haemat. 18, 98 (1957);
- 8) Ruhenstroth-Bauer, G., G.Brittinger, E.Granzer u. G.Nass: Dtsch.med.Wschr. 85, 808 (1960);
- 9) Sander, F. u. M.Sander: Z.Immun.Forsch. 109, 50 (1952);
- 10) Ruhenstroth-Bauer, G.: Acta haemat. 18, 234 (1957);
- 11) Morgan, W.T.J.: Naturwiss. 46, 181 (1959);
- 12) Springer, G.F.: Klin.Wschr. 38, 513 (1960);
- 13) Abderhalden, E.: Pflügers Arch.Physiol. 193, 236 (1922);
- 14) Schmidt, G.: Z.Immun.Forsch. 112, 26 (1955);
- 15) Westergren, A.: Ergebn.inn.Med. 26, 577 (1924);
- 16) Oettingen, v.K.: Biochem.Z. 118, 67 (1921);
- 17) Linzenmeier, G. u. H.Eyer: Münchmed.Wschr. 81, 174 (1934);
- 18) Bürker, K.: Münch.med.Wschr. 69, 577 (1922);
- 19) Betke, K. u. I.Rodig: Ärztl.Laborat. 2, 95 (1956);
- 20) Schachtschabel, D. u. W.Zillig: Z.physiol.Chem. 314, 262 (1959);
- 21) Schuster, H., G.Schramm u. W.Zillig: Z.Naturforsch. 11b, 339 (1956);
- 22) Bayerle, H., R.Marx u. H.Heyn: Ärztl.Forsch. 3, 297 (1949);
- 23) Conway, E.J. u. A.Byrne: J.biol.Chem. 27, 420 (1933);
- 24) Wahl, K.: Münch.med.Wschr. 92, 1285 (1950);
- 25) Ponder, E.: Hemolysis and related Phenomena, New York (1948)
- 26) Bendien, W.M., J.Neuberg u. I.Snapper: Biochem.Z. 247, 306 (1932);
- 27) Koller, S.: Graph.Tafeln z.Beurteil.statist.Zahlen, Darmstadt (1953);

- 28) Gulliver: Edinburg med. u. surg.J. 64, 360 (1845);
- 29) Fried, J.F., M.W.Rosenthal u. J.F.Schubert: Fed.Proc. 17, 223 (1958);
- 30) Geschke, F.: Arch.f.Hyg. 94, 237 (1924);
- 31) Sacher, G.A.: Blood 11, 174 (1956);
- 32) Swedin, B.: Biochem.Z. 257, 411 (1933);
- 33) Wendt, F.: Dtsch.med.Wschr. 84, 2084 (1959) (Übersicht);
- 34) Westphal, O.: Ann.L'Inst.Past. 98, 789 (1960) (Übersicht);
- 35) Finerty, C.J.: Physiol.Rev. 32, 277 (1952) (Übersicht);
- 36) Lawrence, H.S.: Physiol.Rev. 39, 811 (1959) (Übersicht);
- 37) Braude, A.I., F.J.Carey u. M.Zalesky: J.clin.Invest. 34, 858 (1955);
- 38) Landy, M. u. M.J.Shear: Fed.Proc. 16, 857 (1957).

Lebenslauf

Am 27. 6. 1934 wurde ich, Gisela Nass, in Hannover geboren als Tochter des Stadtsyndikus Dr.jur. Otto Nass und seiner Ehefrau Ellen, geb. zur Nieden.

Ostern 1940 kam ich in die Volksschule 33 von Hannover. Im Herbst 1944 wurde ich in die Oberschule in Langenberg (Rhld.) aufgenommen. Die Reifeprüfung legte ich im Februar 1954 an der Oberschule für Mädchen in Hamburg-Harburg ab.

Im Sommersemester 1954 begann ich in Heidelberg mit dem Medizinstudium. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im August 1956 in Hamburg. Im Juni 1960 beendete ich in München das Medizinstudium mit dem medizinischen Staatsexamen.

Von Juni 1958 bis Juni 1960 arbeitete ich im Max-Planck-Institut für Biochemie in München an meiner medizinischen Doktorarbeit.

